

PCT/JP03/13238

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

16.10.03

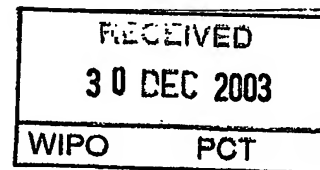
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 2002年10月16日

出 願 番 号
Application Number: 特願2002-301433
[ST. 10/C]: [JP2002-301433]

出 願 人
Applicant(s): 旭化成ファーマ株式会社

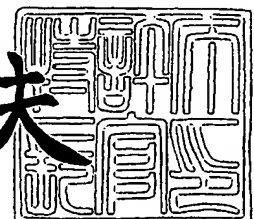


PRIORITY
DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2003年12月11日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康夫



【書類名】 特許願

【整理番号】 X1020748

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 A61K 35/14
A61M 1/34

【発明者】

【住所又は居所】 東京都千代田区神田美土代町 9 番地 1 旭化成株式会社
内

【氏名】 佐藤 裕

【発明者】

【住所又は居所】 ドイツ連邦共和国 フランクフルト アム マイン 6
0 5 2 8, リオナーストレッセ 4 4 - 3 5, 旭化成ド
イツ株式会社内

【氏名】 佐藤 哲男

【発明者】

【住所又は居所】 フランス オウベール 5 9 2 4 9, ルー デュレヴ
ール 8 6

【氏名】 ティエリー バーノフ

【発明者】

【住所又は居所】 フランス オウベール 5 9 2 4 9, ルー デュレヴ
ール 8 6

【氏名】 ミラーナ ラドセビッチ

【発明者】

【住所又は居所】 エジプト カイロ 1 1 1 1 1, マリエット ストリー
ト エーピーター 9 カースル エルーニル, 1 3

【氏名】 ハイジ アルフォンセ ゴブラン

【特許出願人】

【識別番号】 000000033

【氏名又は名称】 旭化成株式会社

【代理人】

【識別番号】 100090941

【弁理士】

【氏名又は名称】 藤野 清也

【選任した代理人】

【識別番号】 100113837

【弁理士】

【氏名又は名称】 吉見 京子

【選任した代理人】

【識別番号】 100076244

【弁理士】

【氏名又は名称】 藤野 清規

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 014834

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 血漿製剤または血清製剤、及びその製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 ヒトあるいは動物の血漿製剤または血清製剤の製造方法であって、

- (a) ヒトあるいは動物の血漿より白血球を減少させる工程、及び
- (b) (a)工程より後に行なうウイルス除去膜を用いる濾過工程を含むことを特徴とするヒトあるいは動物の血漿製剤または血清製剤の製造方法。

【請求項 2】 (b)工程のウイルス除去膜の平均孔径が100nm以下であることを特徴とする請求項 1 に記載の製造方法。

【請求項 3】 (a)工程が白血球除去フィルターによる白血球減少工程である請求項1または 2 に記載の製造方法。

【請求項 4】 (a)工程および(b)工程が25-40℃の温度環境下で行なわれることを特徴とする請求項 1 ～ 3 のいずれかに記載の製造方法。

【請求項 5】 (a)工程および(b)工程が98kPa以下の圧力環境下で行なわれることを特徴とする請求項 1 ～ 4 のいずれかに記載の製造方法。

【請求項 6】 (a) 工程および (b) 工程において通過させる血液の量が100ml～500mlであることを特徴とする請求項 1 ～ 5 のいずれかに記載の製造方法。

【請求項 7】 (b) 工程の処理時間が40分以下であることを特徴とする請求項1～ 6 のいずれかに記載の製造方法。

【請求項 8】 (b) 工程に用いるウイルス除去膜の平均孔径が、75nm以下であることを特徴とする請求項1～ 7 のいずれかに記載の製造方法。

【請求項 9】 (b) 工程に用いるウイルス除去膜が、平均孔径75nmとそれに続く平均孔径35nmのウイルス除去膜の組み合わせであることを特徴とする請求項 1～ 8 のいずれかに記載の製造方法。

【請求項 10】 下記(a)工程および(b)工程を含む工程により製造されたヒトあるいは動物の血漿製剤または血清製剤。

- (a) 白血球減少工程、及び
- (b) (a)工程より後に行なうウイルス除去膜を用いる濾過工程。

【発明の詳細な説明】**【0001】****【発明の属する技術分野】**

本発明は、安全性の高いヒトおよび動物の血漿あるいは血清、およびその製造方法に関する。

【0002】**【従来の技術】**

ヒトの血漿あるいは血清、および動物の血漿あるいは血清は、潜在的にウイルス混在の可能性がある。従って、血漿、血清およびそれを原料として製造される血液製剤の使用により、ヒトであれば、エイズウイルスおよび各種肝炎ウイルスなどの危険性の高いウイルスに感染する可能性は否定できない。

従来、これら血液製剤使用に関するウイルス感染を防ぐ方法が提案されてきた。例えば、血液製剤中に存在するウイルスを不活化する方法として、界面活性剤やメチレンブルーを使用する化学的な不活化方法などが知られている。しかし、いずれの方法も、蛋白質の活性の低下、用いた化学物質の除去などのために煩雑な操作が必要であり、又化学物質の残存といった欠点を有している。

【0003】

一方、膜を利用しウイルスを除去する方法は、蛋白質を変性させず、活性の低下も実質的になくウイルスの安全性を高める方法としては、他の方法に比較して優れている。例えば、特許文献1および2には、血漿を特別な性能を有する多孔質中空糸で処理することにより、C型肝炎ウイルスあるいはエイズウイルスに対して高い安全性を確保する方法が記載されている。

【0004】

同様に、特許文献3および4には、再生セルロースの濾過膜を用いる濾過方法およびそのシステムが開示されている。これらはいずれも、ウイルスをその大きさにより分離する方法を提案している。一方、特許文献5には、溶液の特殊な条件下で、ウイルスの粒子径より大きな孔を有する膜によりウイルスを除去する方法が開示されている。

【0005】

又、特許文献6には、エンベロープウイルスがLDL (Low density lipoprotein ;低比重リポ蛋白) と結合することに着目し、LDL除去用のフィルターを利用してウイルスを除去する方法が提案されている。

しかし、これらのいずれの方法も欠点を有している。上記特許文献5および6は、ウイルスを特殊な条件下で凝集させ、あるいは他の混合物と結合させることにより、排除あるいは吸着により除去する方法である。当該方法は、除去されるウイルスの種類が限定されること、および条件の変動により除去の効果が一定でないといった欠点を有する。

一方、特許文献1および2は、ウイルスの粒子径とそれより小さな粒子径の蛋白質を大きさにより分離する方法であるが、当該膜では、ウイルスの除去率、タンパクの透過性能ともに満足行くものではない。一方、特許文献3および4は、ウイルス除去率に関しては優れた方法であるが、蛋白質処理量に問題があり、実用に供し得ない。

【0006】

- | | |
|---------|------------------|
| 【特許文献1】 | 特開昭61-16837号公報 |
| 【特許文献2】 | 特開昭63-68176号公報 |
| 【特許文献3】 | 特開平1-192368号公報 |
| 【特許文献4】 | 特開平1-254205号公報 |
| 【特許文献5】 | 特開平10-28581号公報 |
| 【特許文献6】 | 特開2000-334037号公報 |

【0007】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の課題は、ウイルス汚染の可能性のある血漿、血清から確実にウイルスを除去し、しかも工業的に有効である安全な血漿製剤、血清製剤を製造する方法、および該方法により製造された血漿製剤、血清製剤を提供することである。

【0008】

【課題を解決するための手段】

以上述べたように、膜を使用して蛋白質に変性を与えずにウイルスに対する安全性を高める方法は、従来から検討されてきたが、血漿、血清は、混在する蛋白

質も多く、かつ分子量の高い有用蛋白質が多く含まれることから、有用蛋白質の透過性を確保し、かつ重篤なウイルスを確実に除去する方法の提供は困難であった。

本発明者らは、上記の課題を解決するために種々の研究をかさねた結果、原料となるヒトあるいは動物の血漿を、ウイルス濾過フィルターで濾過する前に、白血球を除去する工程を導入することにより効率的なウイルス除去が可能であることを見出し、さらに検討を重ね本発明を完成した。

【0009】

すなわち、本発明は、

- (1) ヒトあるいは動物の血漿製剤または血清製剤の製造方法であって、
 - (a) 原料となるヒトあるいは動物の血漿または血清より白血球を減少させる工程、及び
 - (b) (a)工程より後に行なうウイルス除去膜を用いる濾過工程を含むヒトあるいは動物の血漿製剤または血清製剤の製造方法。
- (2) (b)工程のウイルス除去膜の平均孔径が、100nm以下であることを特徴とする上記(1)に記載の製造方法。
- (3) (a)工程が白血球除去フィルターによる白血球減少工程である上記(1)又は(2)に記載の製造方法。
- (4) (a)および(b)工程が25-40℃の温度環境下で行なわれることを特徴とする上記(1)～(3)のいずれかに記載の製造方法。
- (5) (a)および(b)工程が98kPa以下の圧力環境下で行なわれることを特徴とする上記(1)～(4)のいずれかに記載の製造方法。
- (6) (a)および(b)工程において通過させる血液の量が100ml～500mlであることを特徴とする上記(1)～(5)のいずれかに記載の製造方法。
- (7) (b)工程の処理時間が10-40分であることを特徴とする上記(1)～(6)のいずれかに記載の製造方法。
- (8) (b)工程に用いるウイルス除去膜の平均孔径が、75nm以下であることを特徴とする上記(1)～(7)のいずれかに記載の製造方法。
- (9) (b)工程に用いるウイルス除去膜が、平均孔径75nmとそれに続く平均孔径35

nmのウイルス除去膜の組み合わせであることを特徴とする上記(1)～(8)のいずれかに記載の製造方法。

(10) 下記(a) および(b)工程を含む工程により製造されたヒトあるいは動物の血漿製剤または血清製剤。

(a) 白血球減少工程、

(b) (a)工程より後に行なうウイルス除去膜を用いる濾過工程。

【0010】

【発明の実施の形態】

本発明は、新鮮凍結血漿の凍結前の血漿を、ウイルス除去フィルターで濾過する際、あらかじめ白血球を減少させることにより、有用物質の透過性を確保しつつ、ウイルスを効率的に確実に除去することができることを見出したことに基づくものである。

本発明のヒトあるいは動物の血漿製剤または血清製剤の製造の原料となる血漿又は血清は、新鮮凍結血漿の凍結前の原料血漿であることが好ましい。また、凍結前の保存期間が長い血漿は、含まれる蛋白質、脂質等が結合し、濾過操作の際に、透過率の低下、および透過量の低下量の低下を引き起こすので、凍結前の保存期間が短い血漿が好ましい。

【0011】

本発明において、白血球を減少する工程は、白血球を減少させ得るものであれば、どのような方法でもよい。例えば、超遠心分離による方法等があるが、白血球除去フィルターを用いる方法が、簡単であり好ましい。白血球除去フィルターは、白血球を除去させるフィルターであれば、材質など問わないが、例えばポリエステル不織布を使用することが望ましい。

本発明におけるウイルス除去フィルターとは、少なくともウイルスと蛋白質をその大きさの違いにより分離する機能を有する膜を意味し、再生セルロース、ポリエチレン、ポリフッ化ビニリデンなど材質は問わないが、再生セルロースは、蛋白質の吸着が少なく好ましい。

【0012】

又、従来使用されている各種ウイルス除去膜では、その平均孔径を表示する方

法・尺度が統一されていないが、本発明においてウイルス除去膜の平均孔径とは、ウイルス除去膜における平均孔径をウイルス除去性能で以下のように定義する。すなわち、平均孔径A nmのウイルス除去膜とは、粒子径A nm以上の粒子径を有するウイルスを効果的に除去できることを意味する。効果的に除去するとは、対数除去率 ($LRV = -\log_{10} (\text{濾過後ウイルス濃度} / \text{濾過前ウイルス濃度})$) が3 以上、好ましくは4以上、より好ましくは6 以上を意味する。例えば、平均孔100nmの平均孔径を有するウイルス除去膜とは、粒子100nm以上のウイルスを効果的に除去できることを意味する。よって、除去したいウイルスの平均粒子径によって、使用するウイルス除去膜を選択する。例えば、100nmの平均孔径を有するウイルス除去フィルターが除去対象とするウイルスは、具体的には、エイズウイルス (HIV, 平均粒子径100-120nm)、仮性狂犬病ウイルス (PSR, 平均粒子径120-200nm)、マウス白血病ウイルス (MuLV, 平均粒子径120-150nm) 等である。

【0013】

血漿または血清からエイズウイルス (HIV) を除去するためには、ウイルス除去フィルターの平均孔径は、100nm以下であるものが有用である。さらに、平均孔径が75nm以下であれば、エイズウイルスの混入の可能性は更に低下し好ましく、さらに100nm以下75nm以上の粒子系を有するウイルスも除去され、得られる製剤の安全性が増加する。蛋白質の透過性は高いほど好ましい。総蛋白質の透過率は、70%以上が好ましく、より好ましくは80%以上である。

また、ウイルス除去膜は、適当な孔径を選択することにより病原性因子や不要の血漿混入物も除去可能である。

【0014】

本発明は新鮮血漿から (a) 白血球除去膜を用いて白血球を減少させる工程と、(b) (a)工程を行った後ウイルス除去フィルターを使用してウイルスを濾過除去する工程とからなる安全性の高い血漿を製造する方法であり、これらの工程は、どのような装置・操作を行なっても良いが、(i)温度制御手段および(ii)加圧手段を有する制御可能な条件で行えば、操作結果の再現性が期待され、濾過後の血漿の品質が安定するので好ましい。温度制御手段((i))により制御された温度は、蛋白質が変性しない温度であれば何度でもよいが、25~45℃が好ましい。濾過する

温度が25℃未満だと、血漿の粘度が高くなるため、濾過に長い処理時間を要し、実用的な時間範囲内に処理するのが困難となる。このようなことから、温度は25℃以上が好ましい。一方、処理温度が45℃より高くなると、蛋白質の品質が熱により低下する可能性があり好ましくない。より好ましくは30～37℃である。

処理時の圧力は、膜の耐圧以下であればどのような値でもよいが、98kps以下の圧力が蛋白質の変性が少ないので好ましく、より好ましくは80kps以下である。

【0015】

1回に処理する容量は、特に制限はないが、一個体から採取できる血漿は通常100～500mlであるため、100ml～500mlが通常1回に処理する容量である。100ml以下であると1回の処理量としては経済上好ましくなく、500ml以上であると一個体から採取するには個体への負担が大きい。より好ましくは200～400mlである。

また、処理時間は、処理する血漿量と膜の面積などにより決定されるが、40分以下にするように設定することが好ましい。個体からの採血と同時に濾過する場合、40分以下であれば個体への負担が少ないためであり、あまりに濾過時間が長いと製剤の変性の可能性も場合によっては考えられるからである。

さらに、上記したような操作において、孔径が75nmのウイルス除去フィルターと、それに続く孔径が35nmのウイルス除去フィルターで濾過した場合は、C型肝炎ウイルス（HCV, 平均粒子径30-60nm）などの危険なウイルスが除去され、更に安全性の高い血漿製剤が提供される。

また、あらかじめ血漿からフィブリノゲンを除去したものである血清を原料として使用する。または血漿製剤製造工程のいずれかにおいてフィブリノゲンを除去する等により、同様に安全性の高い血清製剤を製造することができる。

【0016】

【発明の効果】

本発明によって得られた血漿製剤あるいは血清製剤は、濾過するウイルス除去膜の平均孔径に応じてウイルスの安全性が高まるので、その使用目的に応じて、そのまま輸血用に使用されるか、あるいは凍結新鮮血漿として保管され、さらに輸血、あるいは分画製剤の原料血漿として使用することができる。

【0017】

以下、実施例を挙げて本発明を説明する。

【実施例】

【実施例1】

Fresenius社製血漿分離採取装置 AF104を用いて献体者の血液から分離した血漿を直ちに、旭化成製白血球除去フィルター「セパセル」で濾過し、さらに旭化成社製ウイルス除去フィルター「プラノバ」で濾過した。使用した「プラノバ」は、膜面積0.06sqmで、最初に平均孔径75nmで濾過し、続いて35nmで濾過した。濾過は、JMS社製ポンプ OT-601を使用し一定の流速で行った。濾過温度は35℃±2℃に制御した。

血漿量250mlを30分で処理し、圧力は0.3-0.6 kg/sqcmであった。

蛋白質の透過量を表1に記載する。表1より蛋白質の透過量が75nmでは75%以上、35nmでも、F-VIII以外、90%以上で、F-VIIIも50%以上であり、実用上問題ないことがわかる。

【0018】

【比較例1】

実施例1における「セパセル」濾過および平均孔径75nm「プラノバ」濾過を行わない点以外は実施例1と同様に行った。平均孔径35nm、膜面積0.06sqmのプラノバで濾過開始後、50ml濾過した時点で圧が1.0kg/sqcmを越えたので濾過を中止した。

【0019】

【表1】

| 蛋白質 | 白血球除去フィルター | ウイルス除去フィルター | |
|--------|------------|-------------|------|
| | | 75nm | 35nm |
| F-VIII | 88% | 75% | 55% |
| グロブリン | 93% | 90% | 82% |
| アルブミン | 100% | 100% | 100% |

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 本発明は、ウイルス混入の可能性の極めて低い、血漿製剤、血清製剤及びその製造法に関する。

【解決手段】 血漿製剤、血清製剤の原料の血漿または血清をウイルス除去フィルターに適用する前に、血液中の夾雑物である白血球を除去しておくことにより、目詰まりを防ぎ、効率的にウイルス混入の可能性の極めて低い血漿製剤、血清製剤を製造する。

目詰まりが起こりにくいため、濾過が進むに従い高圧力をかけるというような必要もなく、効率的な濾過が可能である。

【選択図】 なし

認定・付加情報

| | |
|---------|----------------|
| 特許出願の番号 | 特願 2002-301433 |
| 受付番号 | 50201554249 |
| 書類名 | 特許願 |
| 担当官 | 第五担当上席 0094 |
| 作成日 | 平成14年10月17日 |

<認定情報・付加情報>

| | |
|-------|-------------|
| 【提出日】 | 平成14年10月16日 |
|-------|-------------|

次頁無

【書類名】 出願人名義変更届 (一般承継)
【提出日】 平成15年10月 1日
【あて先】 特許庁長官 殿
【事件の表示】
【出願番号】 特願2002-301433
【承継人】
【識別番号】 303046299
【氏名又は名称】 旭化成ファーマ株式会社
【代表者】 中岡 靖晶
【提出物件の目録】
【物件名】 商業登記簿謄本 1
【援用の表示】 平成04年特許願第154594号
【物件名】 承継証明書 1
【援用の表示】 平成04年特許願第154594号

特願 2 0 0 2 - 3 0 1 4 3 3

出 願 人 履 歷 情 報

識別番号

[0 0 0 0 0 0 0 3 3]

1. 変更年月日

2 0 0 1 年 1 月 4 日

[変更理由]

名称変更

住 所

大阪府大阪市北区堂島浜 1 丁目 2 番 6 号

氏 名

旭化成株式会社

特願 2002-301433

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[303046299]

1. 変更年月日

2003年 8月20日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都千代田区神田美土代町9番地1

氏 名

旭化成ファーマ株式会社